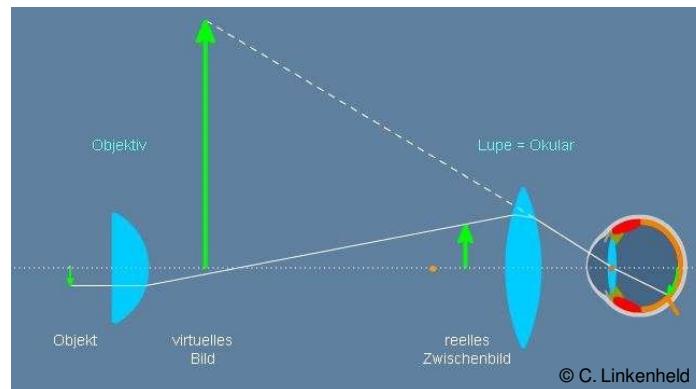




Mikroskopie I

Tag 1

Mikroskopieren im Hellfeld





Hellfeld-Mikroskopie: Für **kontrastreiche Präparate**

Objekte werden im Durchlichtverfahren auf hellem Grund sichtbar gemacht

Lernziele

- Bedienung des Lichtmikroskops
- Theoretische Grundlagen der Lichtmikroskopie

Lichtmikroskop: Linsensysteme



Okulare

Nachvergrößerung des Zwischenbildes

Objektive

Kondensor

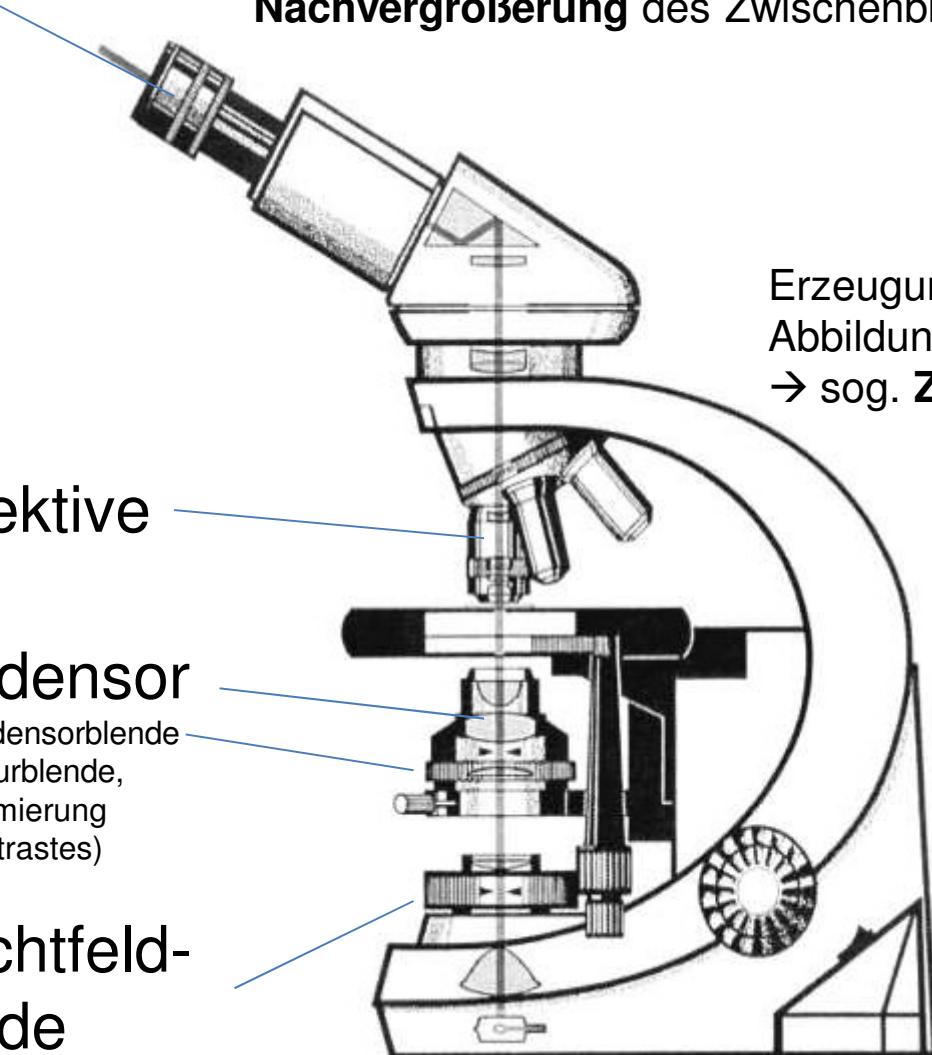
mit Kondensorblende
(= Aperturblende,
zur Optimierung
des Kontrastes)

Leuchtfeld-
blende

Erzeugung einer vergrößerten
Abbildung des Objekts
→ sog. **Zwischenbild**

Abbildung des Lichts der
Projektionslampe
in die **Öffnung des Objektivs**
(Apertur (Öffnungsweite) des Objektivs ganz mit
Licht zu füllen → größtmöglich Auflösung)

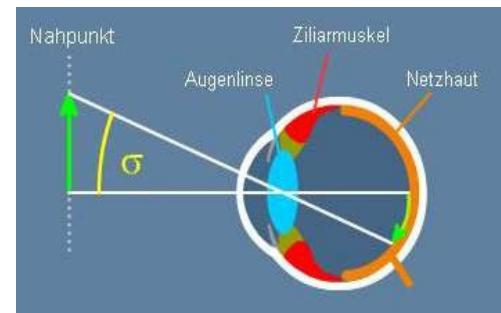
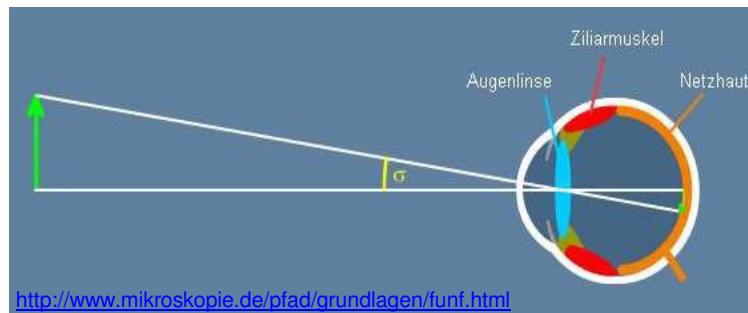
Einschränkung des beleuchteten
Bereichs



Das menschliche Auge



Die **relative Größe** mit der wir die Dinge sehen hängt davon ab, wie groß deren **Bild auf der Netzhaut** des Auges erscheint.

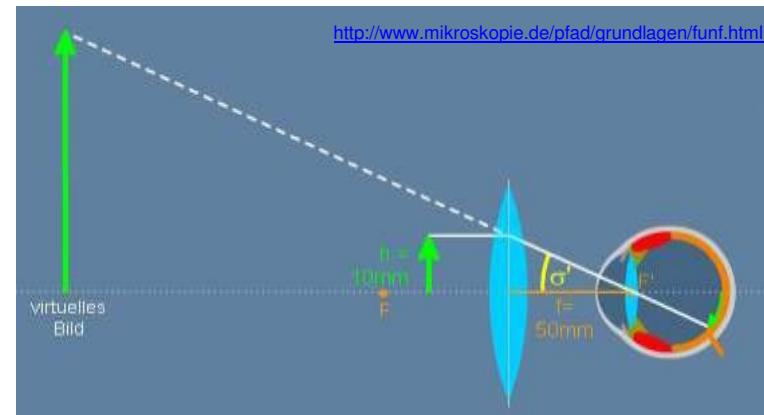
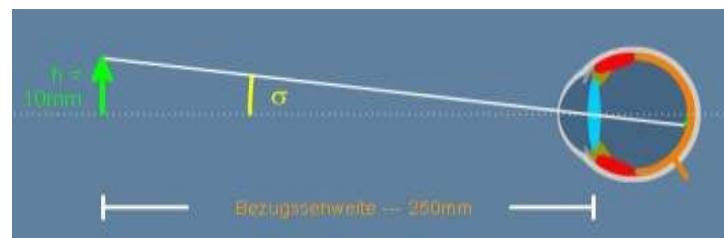


- Das **Netzhautbild wächst mit zunehmendem Sehwinkel**
- **Nahpunkt:** Punkt, an dem ein Objekt unter **größtmöglichem Sehwinkel** noch scharf wahrgenommen werden kann

Vergrößerungsglas



Lupe: Einfachstes optisches Instrument, welches zu einer **Vergrößerung** führt

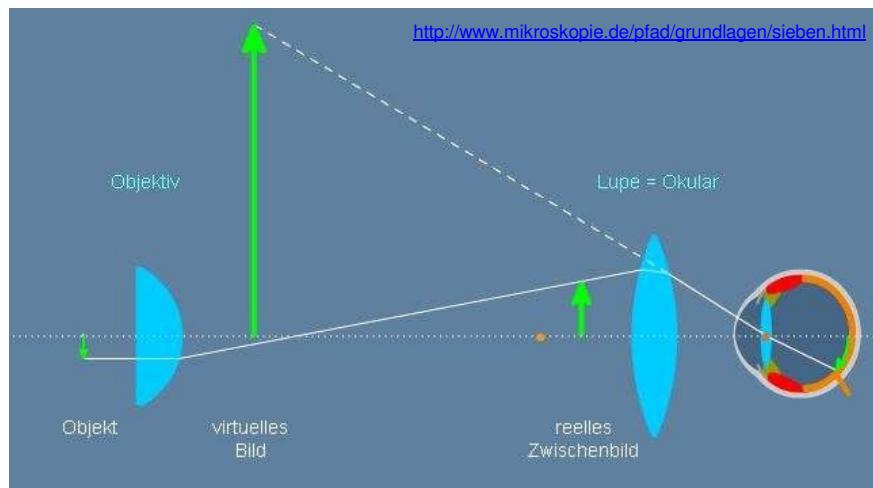


→ Beim Gebrauch einer Lupe wird der **Sehwinkel vergrößert**

Zusammengesetztes Mikroskop



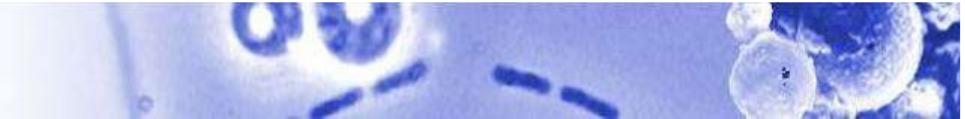
Stärkere Vergrößerung: Hintereinandergeschaltete Linsensysteme → **Objektiv** und **Okular**



Maßstabszahl des Objektivs:
Größenverhältnis in welchem
eine bestimmte Strecke im
Zwischenbild zur
entsprechenden Strecke im
Präparat steht (z.B. 40:1)

Gesamtvergrößerung = **Maßstabszahl** Objektiv x **Lupenvergrößerung** Okular

Auflösung in der Mikroskopie



Eigenschaften und Qualität des mikroskopischen Bildes vor allem bestimmt durch **Vergrößerung, Auflösung, Kontrast**

Abstand d , den **zwei Strukturen** im Präparat mindestens haben müssen, um noch als **getrennte Strukturen** wahrgenommen werden zu können

Abhängig von

- der **Wellenlänge** λ des verwendeten Lichts
- den **numerischen Aperturen** A des Objektivs und des Kondensors

$$d = \frac{\lambda}{A_{obj} + A_{Kond}}$$
$$A_{obj} = A_{Kond}$$

$$d = \frac{\lambda}{2A}$$

Numerische Apertur

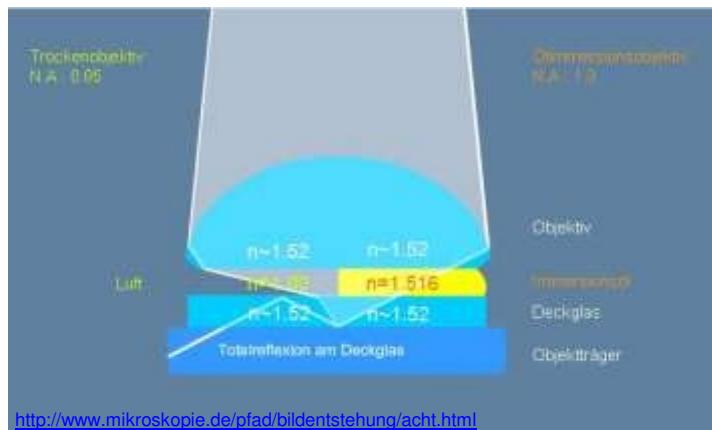


Die **numerische Apertur** (Formelzeichen A, NA oder n.A.) beschreibt das Vermögen eines optischen Elements, **Licht zu fokussieren**.

$$A = n \sin \sigma$$

Abhängig vom

- **Brechungsindex** n des Mediums zwischen Präparatoberfläche und Objektivfrontlinse
- **Öffnungswinkel** 2σ des Objektivs



<http://www.mikroskopie.de/pfad/bildentstehung/acht.html>

Objektiv mit großem
Öffnungswinkel 2σ



Objektebene

Objektiv mit kleinem
Öffnungswinkel 2σ



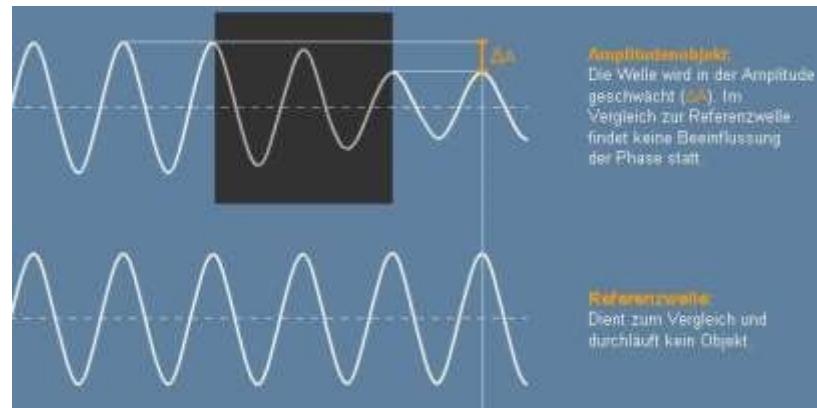
Objektebene

<http://www.mikroskopie.de/kurse/apertur.htm>

Kontrastreiche Präparate



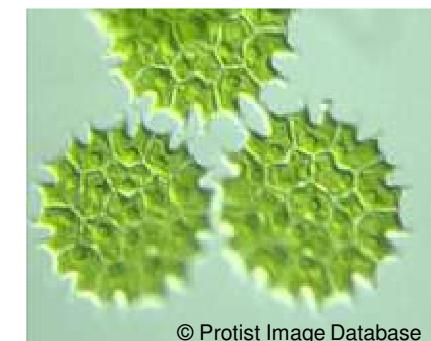
Ein mikroskopisches Objekt ist nur dann sichtbar, wenn es genügend **Kontrast** (Unterschied zwischen hellen und dunklen Bereichen des Bildes) besitzt.



Amplitudenobjekte:

- Das **Licht** wird **beim Durchdringen** des Objektes mehr oder weniger stark **absorbiert**, d.h. seine Amplitude verkleinert sich
- Das Auge nimmt dies als **verminderte Helligkeit** wahr oder als **Färbung** (wenn die spektralen Anteile des Lichts unterschiedlich stark absorbiert werden)

Teichwasser:
z.B. Grünalgen

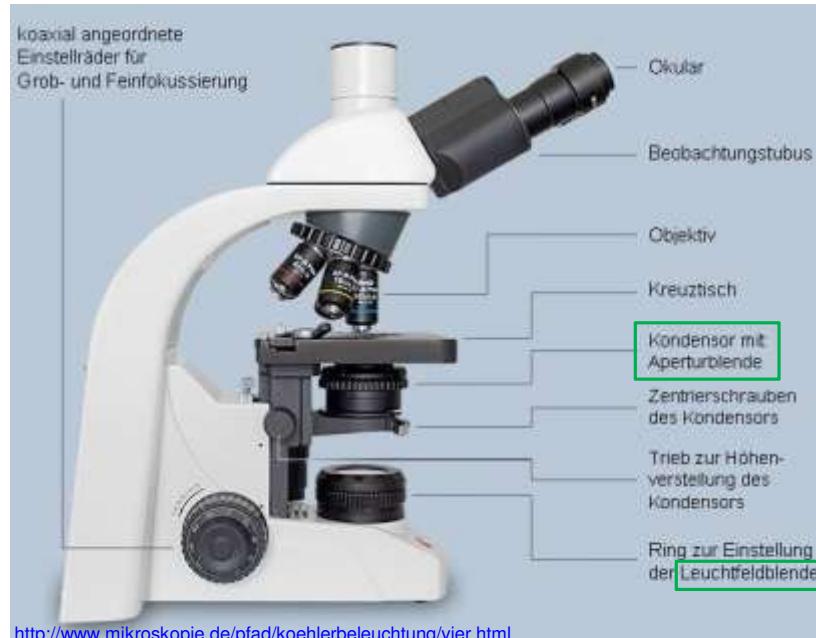


© Protist Image Database
Pediastrum (Zackenräddchen)

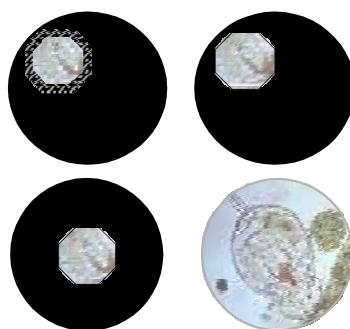


© H. Petry-Hansen
Scenedesmus (Gürtelalge)

Köhlersche Beleuchtung



<http://www.mikroskopie.de/pfad/koehlerbeleuchtung/vier.html>



Lichtführung dahingehend optimiert, dass

- das **Präparat optimal** und weitgehend homogen **ausgeleuchtet** wird
- die Entstehung von **Streulicht** weitgehend **unterbunden** wird

1. Lichtquelle einschalten, Leuchtfeldblende öffnen und Kondensor bis zum Anschlag heben
2. Präparat fokussieren (10x Objektiv)
3. Leuchtfeldblende schließen
4. Kondensor in der Höhe verstellen bis der Rand der Leuchtfeldblende scharf abgebildet wird
Zentrieren des Bildes (bei manchen Mikroskopen)
5. Leuchtfeldblende öffnen bis sie gerade aus dem Sehfeld verschwindet

Kursmikroskop

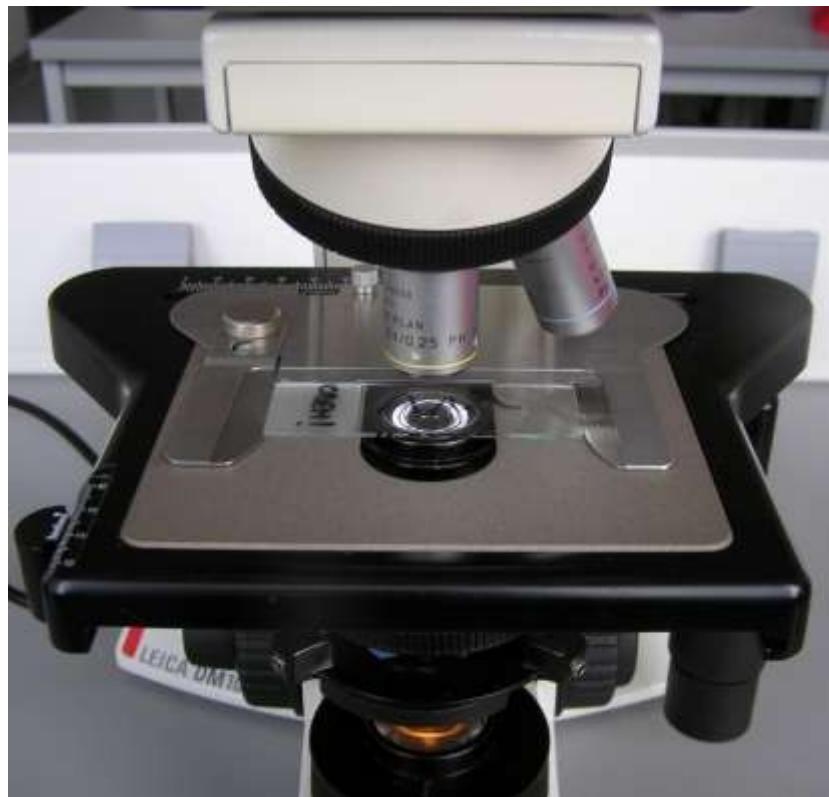
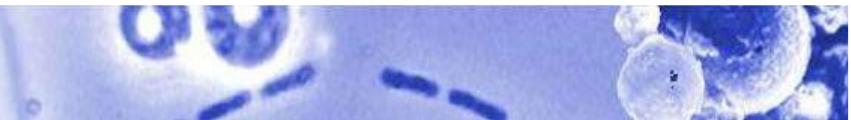


Höhenregulierung des
Objekttisches zur **Fokussierung**
(Grob- und Feintrieb)

Höhenregulierung des
Kondensors

Koaxialtrieb zur
Präparatverschiebung

Mikroskopieren – Erste Schritte



- Objektträger einspannen
- Mit **10x Objektiv fokussieren**
- Präparat **durchmustern**



Interessantes **Objekt**
gefunden

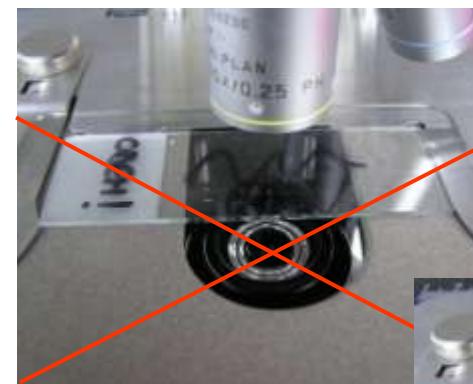
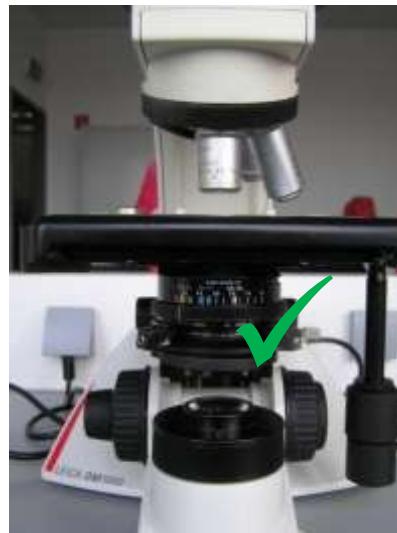
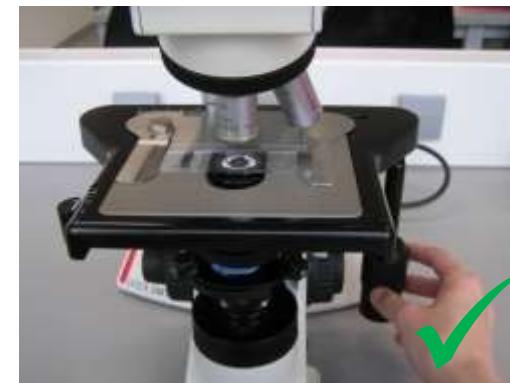
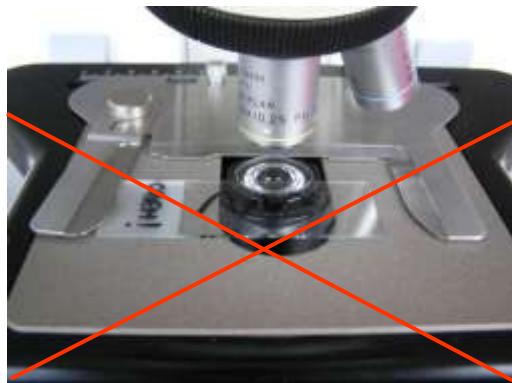
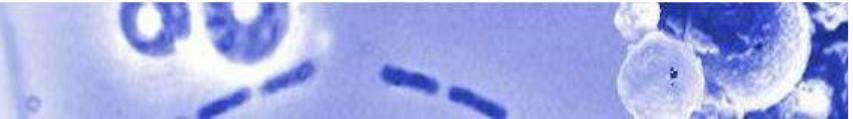
→ **40x Objektiv einschwenken**,
leicht nachfokussieren
→ **zeichnen!**



100x Objektiv =
Ölimmersionsobjektiv

Öl auf dem Präparat: Mikroskopieren mit **10x**
und **40x Objektiv** **nicht** mehr möglich!!!

Mikroskopieren – Dos and Don'ts



Das Mikroskop nie mit Handschuhen anfassen!

Literatur



Bast, E. (2001): Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken. 2. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg.
→ Kapitel 8 **Lichtmikroskopische Untersuchung von Mikroorganismen**

<http://www.mikroskopie.de/pfad/>
<http://www.mikroskopie.de/kurse/>

Streble, H., Krauter, D. (2006): Das Leben im Wassertropfen. Mikroflora und Mikrofauna des Süßwassers. Ein Bestimmungsbuch. 10. Aufl., Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co. KG, Stuttgart.